

ESTUDIO DE DOS FRACCIONES DE ACIDOS FULVICOS DE SUELOS PODSOLICOS

por

FRANCISCO MARTIN MARTINEZ

SUMMARY

Two fractions of fulvic acid from Podzolic soils were studied. They were extracted with acid and purified with ion exchange resins. The titration curves gave one acid equivalent weight of 155-158. The total acidity was 11,9-11,2 meq./g. and the carboxyl content 7,8-7,5 meq./g. The hydroxyl groups, by acetylation, were 8,6-3,5 and by difference 4,4-3,4 meq./g. Their infrared spectra were similar in both fractions. The total C/H and C/O ratios in skelet, and the correlation with the humification process were examined. The soil-forming processes caused, probably, the same humic substances.

I. INTRODUCCIÓN

Los ácidos fúlvicos constituyen la fracción de la materia húmica del suelo soluble en agua. En su estudio no se ha profundizado, debido a que para algunos autores, los ácidos fúlvicos no forman parte del verdadero concepto de ácidos húmicos. Sin embargo, su solubilidad, tanto en agua, como en diversos disolventes orgánicos, facilita la aplicación de técnicas usuales de la Química Orgánica, siendo por ello su estudio más fácil y más completo que el resto de las fracciones de la materia húmica.

Aunque para algunos investigadores, los ácidos fúlvicos constituyen una pree tapa en la formación de los ácidos húmicos, el empleo de las técnicas espectrofotométricas de ultravioletas e infrarrojo, así como los estudios de degradación y determinación de grupos funcionales, han permitido conocer que existen grandes analogías entre ambas fracciones de ácidos fúlvicos y ácidos húmicos.

En el presente trabajo se han empleado las fracciones de ácidos fúlvicos de dos podsoles, uno de ellos situado en el Cantón Tesino (Podsol Nante) y el otro en Vollbüttel (Alemania). El podsol es uno de los

tipos de suelos estudiados más intensamente en los últimos años, y su empleo en este caso prometía considerables ventajas.

En primer lugar, en el podsol las sustancias orgánicas del horizonte superior dispersas al estado coloidal, se movilizan intensamente a lo largo del perfil del suelo, que actúa a modo de columna cromatográfica, fluctuando más tarde y concentrándose de este modo en el horizonte B. Por esta causa las sustancias orgánicas de este horizonte son menos heterogéneas que las existentes en horizontes superiores, en los que a la materia húmica propiamente dicha acompañan cantidades no despreciables de materias no húmicas. Del horizonte B de los podsoles pueden extraerse fácilmente una gran parte de las sustancias orgánicas y especialmente un gran porcentaje de sustancias solubles en agua y en ácidos, probablemente las fracciones de más bajo peso molecular de las que componen la materia húmica del suelo.

La materia húmica del horizonte B de los podsoles se encuentra sobre todo en forma de complejos insolubles de Fe y Al, pero por acción de agentes formadores de complejos se pueden eliminar estos cationes y los compuestos coloreados, solubilizarse en agua y en ácidos diluidos. Asimismo, a bajos valores de pH, se pueden también romper los complejos y extraerse, incluso con ácidos diluidos, la materia húmica del suelo soluble en ácidos y en agua.

Para nuestros estudios hemos empleado la fracción soluble en ácidos, obtenida por extracción con ácido clorhídrico 1 N, extracción que según Dubach y Mehta (4), no altera las moléculas de ácidos fúlvicos, como se ha comprobado al menos por estudio de algunas de sus propiedades, como solubilidad, peso molecular, densidad óptica, etc... Se evitan de este modo los inconvenientes de la extracción con soluciones de NaOH que, si bien extraen una mayor cantidad de materia húmica, pueden dar lugar a una profunda alteración de la misma por auto-oxidación y por fenómenos de polimerización y despolimerización.

II. MATERIALES EMPLEADOS Y MÉTODOS EXPERIMENTALES

a) *Extracción de ácidos fúlvicos*

El suelo, una vez eliminados los restos de plantas y raíces según Roulet et al. (10), se agita en un frasco de polietileno con una solución de ácido ClH 1 N, durante veinticuatro horas. Se centrifuga y se repite esta operación hasta que los extractos son débilmente coloreados. Se unen todos los extractos y se centrifugan en una ultracentrífuga para eliminar las pequeñas partículas de arcilla y coloides minerales. A la solución ácida se añaden algunos c. c. de una solución de cloruro férrico al 5 por 100 y se lleva a pH 4 con NaOH 5 N, precipitando la sal férrica de los ácidos fúlvicos que se separan por centrifugación.

El precipitado obtenido, se introduce en una bolsa de membrana de diálisis y se dializa durante algunos días hasta quedar libre de cloruros. Posteriormente se saca el precipitado y se agita con una resina cambiadora de cationes hasta llevar el precipitado a solución, separándose la solución de la resina por filtración. Después de esta operación, los ácidos fúlvicos en solución y en forma H^+ , se percolan a través de una columna de resina de cambio aniónica, eliminando, por último, el agua en un destilador rotatorio a vacío.

b) *Determinación de grupos funcionales*

La acidez total se ha determinado por el método de absorción de barita (1). Cincuenta mg. de cada una de las fracciones se pesaron en tubos de centrífugas de 250 ml. provistos de tapones que ajustan perfectamente. A continuación se añaden 10 c. c. de agua destilada, agitando suavemente hasta llevar los 50 mg. a solución. Posteriormente, y en corriente de nitrógeno, se adicionan 40 ml. de una solución de $Ba(OH)_2$ 0,1 N (a partir de una solución de Cl_2Ba + solución de $NaOH$). Con gran cuidado y rapidez se deja de pasar nitrógeno, cerrándose los tubos de centrífuga y agitándolos durante dieciocho horas. Al cabo de este tiempo, se centrifugan, obteniéndose una solución débilmente coloreada y un precipitado (la sal bárica de los ácidos fúlvicos). Se pipetea una parte alícuota y se valora con ácido ClH 0,1 N, empleándose fenoftaleína como indicador. Al mismo tiempo y en condiciones análogas, se efectúa un ensayo en blanco. La acidez total se deduce de la fórmula siguiente:

$$\frac{\text{c. c. consumidos} \times \text{normalidad } ClH \times \text{vol. total} \times 1.000}{\text{vol. parte alícuota} \times \text{peso en mg.}}$$

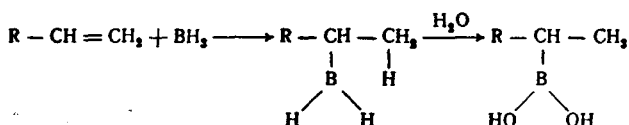
en la que los cm^3 consumidos vienen representados por la diferencia entre la prueba en blanco y la muestra. La acidez total viene así expresada en $meq./g.$

La determinación del grupo carboxilo se realizó por el método de acetato (1). Cincuenta mg. de cada una de las fracciones se solubilizan con 10 ml. de agua destilada, adicionándose posteriormente 40 ml. de acetato bórico 3 N, en corriente de nitrógeno, del modo anteriormente indicado, valorándose en este caso una parte alícuota con $NaOH$ 0,1 N. Mediante la aplicación de la fórmula más arriba expresada, se determinan los $meq./g.$ de carboxilo.

Los grupos hidróxilo se determinaron por acetilación y posterior análisis del contenido en acetilo. La acetilación se llevó a cabo con anhídrido acético, calentando a 60° durante tres horas. Los ácidos fúlvicos se van solubilizando lentamente y la solución va tomando un color

pardo rojizo. Se deja enfriar y se adiciona sobre una mezcla de agua más hielo, formándose un precipitado que se filtra rápidamente. Se lava con agua a 0° y después con éter, secándose por último a vacío.

La determinación de dobles enlaces, se ha efectuado en ambas fracciones con métodos distintos en cada caso. En los ácidos fúlvicos del podsol Nante (fracción *a*) se determinó mediante el diborano. Cuando una molécula con doble enlace olefínico reacciona con diborano, el proceso transcurre del siguiente modo:



mediante análisis de B se puede determinar el contenido en doble enlace.

La adición del enlace H-B del diborano a enlaces del tipo expuesto, es una reacción tan general, como la adición de hidrógeno a tales enlaces (2). Difiere de esta última reacción en la facilidad con que el diborano se adiciona a tales enlaces, mientras que el hidrógeno requiere comúnmente la acción catalítica de metales.

Cincuenta mg. de ácidos fúlvicos se disuelven en 10 ml. de tetrahidrofurano y se adiciona 1 ml. de solución de diborano en tetrahidrofurano. Se forma un precipitado, dejándolo estar en contacto con el diborano durante cuarenta y ocho horas; al cabo de este tiempo se decanta la solución y se añade al precipitado 2 ml. de agua destilada para destruir el exceso de diborano. Al añadir el agua, el diborano reacciona con ella, produciendo ácido bórico, que se elimina por diálisis.

En la fracción de ácidos fúlvicos del podsol de Vollbüttel (fracción *b*), los dobles enlaces se determinaron por medio de hidrogenación catalítica, utilizando óxido de platino como catalizador. Cincuenta mg. de ácidos fúlvicos se disuelven en 20 ml. de una solución alcohólica al 50 por 100. Previamente se introducen en el aparato de hidrogenación 25 miligramos de óxido de platino que se hidrogenan hasta que el nivel de H₂ permanece constante. Entonces se introducen en el aparato de hidrogenación la solución de ácidos fúlvicos, hidrogenándose con agitación, durante veinticuatro horas.

III. RESULTADOS

Los análisis elementales de las fracciones se encuentran en la tabla I. la fórmula empírica de la fracción (*a*) es (C₂₇H₂₃O₁₈), y la de la fracción (*b*) (C₂₂H₁₉O₁₄), basándonos en que el contenido en N es debido a impurezas (3,9).

TABLA I
*Análisis elementales de las fracciones (a) y (b)
expresado en % y libre de cenizas*

	C	H	O	N
(a)	50,86	3,6	44,82	0,81
(b)	40,17	3,4	50,52	0,77

Los grupos, funcionales de ambas muestras se encuentran en la tabla II.

TABLA II
*Contenido en grupos funcionales de las fracciones de ácidos fúlvicos
(los datos en meq/g.)*

	(a)	(b)
(i) Acidez total	11,9	11,2
(ii) Grupos carboxílicos... ..	7,5	7,8
(iii) Hidróxilos fenólicos (i-ii)	4,4	3,4
(iv) Contenido en acetilo de la muestra acetilada en %... ..	13,35	13,27
(v) Grupos hidróxilo por acetilación	3,6	3,5

Las curvas de valoración de ambas fracciones se muestran en la figura 1.

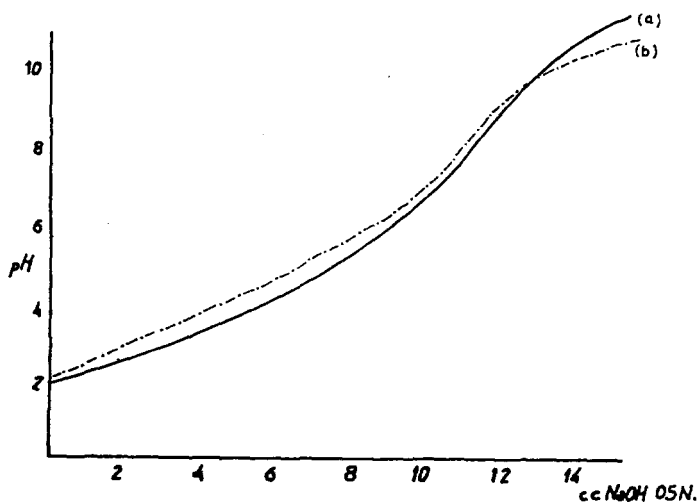


FIG. 1.

Curvas de valoración de las fracciones de ácidos fúlvicos (a) y (b) con NaOH 0,5 N.

En la figura 2 se muestran los espectros de infrarrojo de ambas fracciones de ácidos fúlvicos, tomados en pastillas de Brk.

La reducción de los dobles enlaces, tanto por medio de la hidrobioración, como de la hidrogenación catalítica, muestran que el contenido en dobles enlaces es insignificante en ambas fracciones, hecho que se ha comprobado también, al no obtenerse en la degradación de ácidos húmicos, sustancias con dobles enlaces en la cadena lateral de sus moléculas (5).

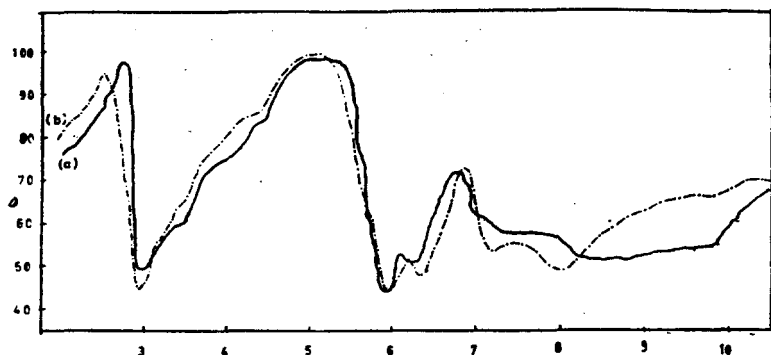


FIG. 2.

Espectros de infrarrojo de las fracciones (a) y (b).

IV. DISCUSIÓN

El análisis elemental (tabla I) de ambas fracciones muestra diferencias en el contenido en carbono y oxígeno, en tanto que el contenido en hidrógeno y nitrógeno es análogo. El nitrógeno, se considera como una impureza, puesto que de hecho se han obtenido fracciones completamente libre de él (12), y Roulet et al. (11) han conseguido por métodos físicos reducir el contenido en nitrógeno de diversas fracciones de ácidos húmicos de diferentes tipos de suelo. El contenido en carbono de ambas fracciones, muestran que la fracción (a) está más humificada que la (b), siendo el contenido de oxígeno de esta última fracción algo más alto que el promedio normal de esta fracción de la materia húmica (6). La humificación se pone de manifiesto por un aumento del contenido en carbono y una disminución del contenido en oxígeno; asimismo se ha comprobado en una serie de fracciones (8) que la humificación lleva consigo una disolución en el número de grupos carboxilo y un aumento en el peso equivalente ácido y en la capacidad de cambio catiónica. Sin embargo, no ocurre así en las fracciones estudiadas, pues el contenido en grupos carboxilo es igual en ambas fracciones (tabla II) y el peso

equivalente ácido también, pues la fracción (a) tiene un peso equivalente ácido de 155 y la fracción (b) de 158 (fig. 1).

En los espectros de infrarrojo (fig. 2) se observan cuatro máximos de absorción en las regiones de 3.400, 1.600, 1.400 y 1.000 cm^{-1} , variando levemente las intensidades de estos máximos en uno y otro espectro.

La absorción a 3.400 cm^{-1} se asocia generalmente a los grupos hidróxilos que están poliméricamente unidos a través de puentes de hidrógeno intermoleculares, incluyéndose los hidróxilos alcohólicos y de agua, y los de agua de cristalización. Wright (15) ha comprobado que esta banda en los espectros de ácidos húmicos no se debe al agua intercambiable.

La absorción a 1.600 cm^{-1} se ha comprobado (14) que se debe a la presencia del ión carboxilo y también a la del grupo éster (14). La banda de 1.400 cm^{-1} está también asociada a la presencia del grupo carboxilo.

La absorción a 1.000 cm^{-1} no ha sido aún suficientemente aclarada, aunque parece ser que se debe a vibraciones producidas por iones del tipo Si-O-Si y Si-O-C, presentes en los silicatos de las arcillas, que en un mayor o menor grado se encuentran como impurezas (cenizas) en todas las fracciones de la materia húmica.

Las pequeñas diferencias encontradas entre ambos espectros están en concordancia con el análogo contenido en grupos funcionales de ambas fracciones, aunque mediante la técnica del infrarrojo es difícil diferenciar entre compuestos con mayor o menor grado de polimerización. Salfeld (13) y Kyuma (7) han observado en los espectros de infrarrojo de una serie de fracciones obtenidas por diversos métodos de fraccionamiento, un desplazamiento en la banda de 1.700-1.600 cm^{-1} hacia la derecha del espectro, así como una mayor intensidad en dichas bandas.

En la tabla III se encuentran los valores de oxígeno y carbono total y en el esqueleto, entendiéndose por esto último el oxígeno y carbono que quedan después de restar lo que se encuentra de estos elementos en los grupos funcionales; asimismo se encuentran las relaciones C/H total y C/O en el esqueleto.

TABLA III

Contenido en C y O₂ total y en el esqueleto de las fracciones de ácidos (a) y (b) expresado en meq/g.

	O ₂ total	O ₂ esq.	C total	C esq.	C/H	C/O
Fracción (a)	27,5	6,9	42	34	14,1	4,9
Fracción (b)	31,5	7,9	38,5	31	13,5	3,9

El contenido en carbono (tabla I) y la relación C/H indican que la fracción (a) está algo más humificada que la fracción (b) y si tenemos en cuenta que el proceso de humificación se puede considerar como una polimerización de monómero (s) estructurales, estos valores están de acuerdo con esta teoría, en tanto que la relación C/O, que nos indica los puentes de oxígeno entre las posibles unidades monoméricas estructurales, parece indicar una mayor diferenciación entre ambas fracciones, puesto que para valores de esta relación de 6, 4 y 3 corresponden 2, 3 y 4 enlaces etéreos respectivamente y los valores de ambas fracciones están comprendidos entre 2 y 3 uniones etéreas, lo cual es químicamente muy posible.

Es interesante resaltar que en lo que respecta a propiedades generales y grupos funcionales, ambas fracciones son análogas, y que esta similitud puede deberse a que las condiciones generales de formación de estos suelos han determinado un mismo tipo de suelo, por lo que la materia húmica presenta caracteres idénticos.

*Centro de Edafología y Biología
Aplicada del Cuarto C. S. I. C.*

RESUMEN

Se han estudiado dos fracciones de ácidos fúlvicos de dos suelos podsólicos, extraídas en medio ácido y purificadas con resinas de cambio. Las curvas de valoración dan un peso equivalente ácido de 155-158. La acidez total es de 11,0-11,2 meq/g., y los grupos carboxilos, de 7,8-7,5 meq/g. Los grupos hidroxilos, determinados por acetilación, son de 3,0-3,5 meq/g. y por diferencia de 4,4-3,4 meq/g. Los espectros de infrarrojo de ambas fracciones son idénticos. Se estudia la relación C/H total y C/O en el esqueleto y sus relaciones con el proceso de humificación, observándose que ambas fracciones son idénticas, probablemente debido a que los procesos generales de formación de estos suelos conducen a materias húmicas idénticas.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) BROOKS, J. D. y STERNHELL, S. 1957. Aust. J. Appl. Sci. 8, 206-21.
- (2) BROWN, H. C. 1962. Hydroboration. Benjamin Inc. New York.
- (3) BURGESS, A. 1960. Sci. Proc. Royal Dublin Soc. Symposium on Humic Acids 53-58.
- (4) DUBACH, P. y MEHTA, N. C. 1963. Z. Pflanz. Düng. Bodenk. 102, 1-7.
- (5) JAKAB, T. 1964. Diss. E. T. H.
- (6) KONONOVA, M. M. 1961. Soil Organic Matter. Pergamon Press.
- (7) KYUMA, K. 1964. Soil Sci. and Plant Nut. Japon. 10, 33-35.
- (8) MARTIN, F. et al. 1963. Z. Pflanz. Düng. Bodenk. 103, 27-39.
- (9) ODEN, S. 1922. Die Huminsäure, pág. 101.
- (10) ROULET, N. et al. 1963. Z. Pflanz. Düng. Bodenk. 102, 1-7.
- (11) ROULET, N. et al.: 1963. Z. Pflanz. Düng. Bodenk. 103, 1-9.
- (12) RUCHTI, J. 1961. Diss. E. T. H.
- (13) SALFELD, J. CH. 1964. Presentado en el VIII Congr. Int. Ciencia del Suelo. Bucarest (Rumania).
- (14) SCHNITZER, M. et al. 1959. Soil Sci. 87, 252-257.
- (15) WRIGHT, X. et al. 1958. Can. J. Soil Sci. 38, 14-22.